TOYOPEARL®

活性化型アフィニティークロマト用担体

TOYOPEARL AF-Amino-650M

取扱説明書

東ソー株式会社

TOSOH

ご使用の前に

¡本製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください．
¡この取扱説明書は，手近な所に大切に保管し，必要なときにいつでも取り出せるようにしてください．
¡製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください．
¡本書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください．
以上の指示を必ず厳守してください．
指示に従わないと，けがや事故の恐れがあります．

【取扱説明書について】

¡取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります．
¡取扱説明書の全部または一部を無断で転載，複製することは禁止しています．
¡取扱説明書を紛失したときは，弊社営業担当者までお問い合わせください．
¡取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください．

安全上のご注意

- ご使用の前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています．

⚠ 警告	取扱いを誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの．
⚠ 注意	取扱いを誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの．

ご使用時

⚠ 警告
火気厳禁 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります．

⚠ 注意
換気に注意を 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，十分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります．
液漏れに注意を 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を付けた上で，液を取り除いてください．

⚠ 注意

¡保護具の着用を

¡有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

¡容器の取扱いに注意を

¡保存温度および取扱いが不適切であると，容器が破裂，破損する可能性があります．取扱いには十分注意してください．

¡適切な使用方法を

¡本バルクゲルは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

¡圧力に注意を

¡送液ポンプ等により，本バルクゲルをカラムに充てんまたは充てんし測定する場合，過度な圧力は十分な性能が得られない場合やカラムの破裂，ゲルの飛散等の可能性があります．適切な保護具を付けた上で，十分注意して作業をおこなってください．

¡分離精製物の取扱いに注意を

¡得られた分離精製物または精製溶液を製品および中間体として使用する場合は，十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください．

¡処分には適切な処理を

¡廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理をおこなってください．

¡購入時の容器が不要になった場合は，溶媒が残らないように処置・洗浄をし，種類別に適切な処分をおこなってください．

【その他の注意】

¡ 本書は大切に保存してください．また，ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください．

目　次

1．はじめに…… 1
2．使用上の注意点…… 1
　2-1 製品…… 1
　2-2 アミノ基量…… 1
　2-3 安定性…… 1
3．リガンドの固定化（実施例）…… 1
　3-1 ーCOOH基を持った化合物の固定化方法…… 1
　3-2 ホルミル基を持った化合物の固定化（還元アミノ化）…… 2
4．目づまりの防止（微粒子の除去）…… 3
5．保存…… 3

2002年 8 月改訂
2000年12月改訂

1．はじめに

TOYOPEARL AF-Amino-650Mはカルボキシル基やアルデヒド基を持つリガンドを固定化できます.

2．使用上の注意点

2-1 製品

製品ゲルは20％エタノール水溶液に，膨潤，懸だくされています．洗浄後，ご使用ください.

2-2 アミノ基量

約100mmol/L-gel

2-3 安定性

非常に安定で，全ての水溶性有機溶媒中で使用することができます.
またpH2.0～13の領域で安定です.

3．リガンドの固定化（実施例）

注）カルボジイミドカップリング法では，タンパク質などカルボキシル基とアミノ基の両方を持つリガンドは，リガンド分子間の架橋が起こる可能性があります.

3-1 －COOH基を持った化合物の固定化方法

3-1-1 タンパク質（－COOH）の固定化（カルボジイミドカップリング法）

1）ゲルを水およびpH4.5～6.0に調整した一級アミノ基，カルボキシル基，リン酸基を含まないpH4.5～6.0の緩衝液*（例えば，20mmol/L MES**緩衝液，pH5.5～6.0）または，pH4.5～6.0に調整した水で，ガラスフィルター（G２）上で手早く洗浄します.
2）ゲルを２g（湿重量）量りとります.
3）タンパク質（40～50mg）を溶かした一級アミノ基，カルボキシル基，リン酸基を含まないpH4.5～6.0の緩衝液*（例えば，20mmol/L MES**緩衝液，pH5.5～6.0）または，pH4.5～6.0に調整した水をゲルに加えます.
4）EDC［N-ethyl-N'-（3-dimethyl aminopropyl）carbodiimide hydro-chloride］60mgをゲル懸だく液に加えます.

5）室温（4℃～35℃）で24～48時間振とう撹拌します．マグネチック・スターラーは使用出来ません．
6）反応後，水→1mol/L NaCl水溶液→水→そして使用する緩衝液の順で洗浄します．

注）*固定化反応と拮抗する一級アミノ基，カルボキシル基，リン酸基を含む緩衝液は使用できませんので，通常はpH4.5～6.0に調整した純水中でおこないます．
**MES：2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸

以上の操作にて，タンパク質固定化量は，ゲル1g（湿重量）当たり約20mg程度です．

3-1-2 シュウ酸（－COOH）の固定化方法（カルボジイミドカップリング法）

1）ゲルをpH4.7に調整した蒸留水に懸だくし，ガラスフィルター（G 2）上で手早く洗浄します．
2）ゲルを 2 g（湿重量）量りとります．
3）シュウ酸カリウム 6 gを蒸留水に溶かし，pHを4.7に調整して25mLにします．
4）上記リガンド溶液をゲルに加えます．
5）EDCを 1 g加えます．
6）室温（4℃～35℃）で20時間振とう撹拌します．マグネチック・スターラーは使用出来ません．
7）過剰なリガンドを除く為，蒸留水→ 1 mol/L NaCl→蒸留水で十分洗浄します．
8）残存アミノ基をアセチル化*します．
以上の操作にて，ゲル 1 mL当たり約25 μ molのシュウ酸が固定化されます．

注）*残存アミノ基をアセチル化
① 湿重量10gのゲルを蒸留水で洗浄します．
② ゲルに0.2mol/Lの酢酸ナトリウムを 8 mL，無水酢酸を 4 mL加えます．
③ 0℃で30分間インキュベートします．
④ 更に 4 mLの無水酢酸を加えて，室温で30分間インキュベートします．
⑤ ゲルを蒸留水→0.1mol/L NaOH→蒸留水で洗浄します．
⑥ ゲルを使用する緩衝液で洗浄します．

3-2 ホルミル基を持った化合物の固定化（還元アミノ化）

3-2-1 ラクトース（－CHO還元糖）の固定化方法

1）水で洗浄したゲルを 1 g（湿重量）量りとります．

2）0.3gのラクトースを加湿した2 mLの0.2mol/L　K_2HPO_4に溶かします.
3）ゲルにリガンド溶液を加えて，粉末の$NaCNBH_3$を0.2g加えます.
4）60℃で一夜振とう撹拌，反応させます.
5）過剰のリガンドを除くため水で洗浄した後，0.1mol/L　ホウ酸バッファー pH8.2で十分洗浄します.
6）洗浄液にはシアンが含まれていますので，酸性にすると有毒なシアンガスが発生します．洗浄液を分解する際には次亜塩素酸を加えますが，その際に溶液がアルカリ性を保つように留意してください.
7）残存アミノ基をアセチル化します．(3-1-2項を参照)
以上の操作にて，乾燥ゲル１ｇ当たり約200 μ molのラクトースが固定化されます.

4. 目づまりの防止（微粒子の除去）

ゲルには若干の微粒子が含まれています.特に多量のゲルをご使用になる場合，目づまりの原因になることも考えられます.

ゲルはデカンテーション（1～2分撹拌して，30分静置後，上澄みを捨てる）を３回程度繰返すことにより微粒子を除去して，ご使用ください.

5. 保存

ゲルは20％エタノール水溶液中で，室温（4℃～35℃）で保存してください.

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.
HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社　営業部　☎(03)5427-5180　〒105-8623　東京都港区芝3-8-2
大阪支店　バイオサイエンスG　☎(06)6209-1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211-5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター　☎(0120)17-1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan